DOI:10.11931/guihaia.gxzw202401035

基于 FUNGuild 的山药腐烂块茎真菌群落研究及潜在病原真菌的分离鉴定

展莉平[1]，任雪洋[1]，张笑一[1]，王瑞飞[1,2]，孔盈利[1]，王强[1,2]，李明军[1]，杨清香[1,2*]

（1. 河南师范大学 生命科学学院，河南 新乡 453007；2. 河南省农业微生物生态与技术国际联合实验室，河南 新乡 453007）

摘要：为探讨山药腐烂块茎的真菌群落特征及主要病原，该研究采用 ITS 扩增子测序技术和 FUNGuild 分析阐明了其真菌群落组成、网络特征及生态功能类群，并对潜在病原真菌进行了分离鉴定。结果表明：（1）山药腐烂块茎中的优势菌门为子囊菌门（Ascomycota），优势属包括青霉属（*Penicillium*）、炭疽菌属（*Colletotrichum*）、镰刀菌属（*Fusarium*）、篮状菌属（*Talaromyces*）和粉红螺旋聚孢霉属（*Clonostachys*）等。真菌生态网络呈现明显的模块化和高比例的正相关边数（99.33%），真菌间趋向于极强的正向合作。（2）FUNGuild 分析显示，10 个真菌生态功能类群与山药块茎腐烂高度相关。其中，凋落物腐生-未命名腐生-木腐菌（dung saprotroph-undefined saprotroph-wood saprotroph）和内生-植物病原真菌（endophyte-plant pathogen）的相对丰度分别达到 33.74% 和 23.64%，其代表性属分别为青霉和炭疽属。除此之外，与植物病原和木腐菌同时相关的生态功能类群共有 3 个，总相对丰度达到 13.67%，代表性属为镰刀菌属。进一步 Trait 分析表明，青霉和镰刀菌等 7 属真菌很可能与山药块茎腐烂密切相关。（3）共分离鉴定真菌 22 株，隶属于 6 个属，包括镰刀菌属（9 株）、青霉属（5 株）和曲霉属（*Aspergillus*，4 株）等。该研究结果为阐明山药块茎腐烂的发病规律、定向使用农药及筛选生防菌提供了很好的参考。

关键词：山药，扩增子测序，真菌群落，FUNGuild，生态功能类群，植物病原真菌

中图分类号：Q949.32　　　文献标识码：A

FUNGuild-based study of fungal community, and isolation and identification of potential pathogenic fungi in yam (*Dioscorea polystachya*) rotting tubers

ZHAN Liping[1], REN Xueyang[1], ZHANG Xiaoyi[1], WANG Ruifei[1,2], KONG Yingli[1], WANG Qiang[1,2], LI Mingjun[1], YANG Qingxiang[1,2*]

(1. *College of Life Sciences*, *Henan Normal University*, Xinxiang 453007, China; 2. *Henan International Joint Laboratory of Agricultural Microbial Ecology and Technology*, Xinxiang 453007, China)

Abstract: To investigate the characteristics of the fungal community and potential key pathogens, ITS rDNA gene amplicon sequencing technology and FUNGuild analysis were used to study the fungal community composition, network characteristics and ecological function groups in rotting

基金项目：中原科技创新领军人才（224200510011）；国家现代农业产业技术体系（CARS-21）；河南省高等学校重点科研项目（22B180006，20A180015）；河南省创新重点项目（202310476022）。

第一作者：展莉平（1998—），硕士研究生，研究方向为植物病原菌，（E-mail）18567120259@163.com。

通信作者：杨清香，博士，教授，主要从事中药材微生物组学功能、山药种质资源与新品种创制等研究，（E-mail）yangqx66@163.com。

tubers of *Dioscorea*. sp. Additionally, potential pathogenic fungi were isolated and identified. The results were as follows: (1) In rotting tubers of *Dioscorea* sp., the dominant phylum was Ascomycota, and prevalent fungal genera included *Penicillium*, *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Talaromyces*, *Clonostachys*, etc. The fungal molecular ecological network exhibited a clear modular structure with a high ratio of positive correlation edges (99.33%), suggesting that positive cooperation was strengthen between different fungi. (2) FUNGuild analysis indicated that 10 guilds were highly correlated with yam tuber rot. Among these guilds, the relative abundances of dung saprotroph-undefined saprotroph-wood saprotroph and endophyte-plant pathogen were 33.74% and 23.64%, respectively, and the representative genera were *Penicillium* and *Colletotrichum*, respectively. Additionally, three guilds were related to both plant pathogen and wood saprotroph, and occupied 13.67% of the ecological functional groups. Moreover, *Fusarium* was representative genus of all three guilds. Traits analysis showed that some fungi (*Penicillium*, *Fusarium*, etc.) in the fungal community were probably invovled in yam tuber rot. (3) A total of 22 strains were isolated and belonged to 6 genera, including *Fusarium* (9 strains), *Penicillium* (5 strains) and *Aspergillus* (4 strains), etc. This study provides an important reference for understanding the pathogenesis of tuber rot in *Dioscorea* sp., and for the selection of appropriate pesticides and biocontrol microbes.

Keywords: *Dioscorea* sp, amplicon sequencing, fungal community, FUNGuild, ecological functional groups, plant pathogenic fungi

山药（*Dioscorea* sp.）是薯蓣科薯蓣属草质藤本植物（Obidiegwu et al., 2020），其地下块茎中富含丰富的多糖、氨基酸、薯蓣皂苷、尿囊素、多酚等活性成分，具有健脾生津、补肺固肾等功效，是一种药食两用的传统大宗中药材（Mondo et al., 2021; Li et al., 2023; Ma et al., 2018）。近年来，随着人们对中医药和食疗生活方式的认可度快速提升，山药的市场需求量急剧增加，种植面积逐年上升。目前，全球山药种植面积约为 1.56 亿亩，全球山药产量约为 8 825.7 万吨（FAOSTAT, 2022）。然而，在山药种植生产中也面临着一系列问题，尤其是真菌病害引发的地下块茎腐烂，严重影响山药产量和质量（李术臣等，2005; 杨小林等，2021）。

已有研究表明，植物病害发生、发展与其微生物群落组成、多样性和生态功能类群变化存在密切的关联。高通量测序技术是目前用于分析植物病害发生发展过程与微生物群落间关系最为常用的方法。例如，Li 等（2023）研究表明，腐皮镰刀菌（*Fusarium solani*）感染导致烟草根际微生物生态网络规模显著变小，真菌之间的正向关联和协作明显强于非感染烟草，毛盾盘菌（*Scutellinia nigrohirtula*）等多个菌属的丰度增加。Liu 等（2022）研究表明，树木褐根病发生时，其根际真菌群落多样性明显降低，褐根病菌（*Phellinus noxius*）与里氏赤壳菌（*Cosmospora*）的丰度呈显著正相关，伞菌纲（Agaricomycetes）、粪壳菌纲（Sordariomycetes）和座囊菌纲（Dothideomycetes）等 6 种真菌丰度与褐根病菌呈负相关。Shu 等（2019）研究表明，油梨根腐病发生时，其真菌群落中的病原菌如壳球孢菌属（*Macrophomina*）等丰度明显上升，益生性真菌如根孢囊霉属（*Rhizophagus*）和空团菌属（*Cenococcum*）等丰度明显下降。但是，以上这些研究借助高通量测序技术只能对真菌群落组成和多样性进行分析，无法对真菌群落生态功能进行预测，更无法全面评估植物疾病与真菌群落间的关系。近年来，FUNGuild 数据库及相关分析的出现，有效的解决了这一问题。依托 FUNGuild 分析，在高通量测序的基础上，不仅可以进行真菌功能的比对，还可以对真菌群落营养型、生态功能类群及致病特性进行分析，有助于解析植物生理

状况与真菌生态功能类群间的关联。例如，李朋发等（2019）利用高通量测序与 FUNGuild 联合分析发现，烟草镰刀菌根腐病植株根际真菌以病理营养型为主，占比高达 54.64%，且镰刀菌属占有绝对优势。刘宇星（2022）发现，刺梨叶斑病患病叶片内生和叶际真菌主要生态功能类群分别为腐生型和植物病原型，占比分别达到 63.16%和 32.26%。郭晗玥等（2023）通过对不同连作时间的西瓜土壤微生物群落进行功能预测发现，西瓜连作 6 茬土壤中病理型真菌被显著富集，植物病原真菌生态功能类群丰度明显提高，其可能通过损伤宿主细胞获取营养，导致西瓜真菌病害的发生。因此，将高通量测序与 FUNGuild 分析相结合是一种阐明植物疾病与真菌群落间关系的有效策略。

目前，已被证实与山药块茎腐烂密切相关的病原菌主要包括镰刀菌、青霉和曲霉（Li et al., 2023; Uy et al., 2022; Popoola et al., 2019）。除此之外，零星报道认为可可色二孢（*Lasiodiplodia theobromae*）、齐整小核菌（*Sclerotium rolfsii*）和群结腐霉（*Pythium myriotylum*）等也是引起山药块茎腐烂的病原真菌（Dania et al., 2016; Dania et al., 2019; Zhang et al., 2018）。但是，已有研究均集中在病原真菌的分离鉴定方面，尚未有研究对山药腐烂块茎的真菌群落组成、生态功能类群和潜在病原真菌进行全面的评价和分析。

本研究联合使用 Illumina Mi Seq 高通量测序、FUNGuild 分析与组织分离培养技术，拟探讨以下问题：（1）腐烂山药块茎中的真菌群落组成及生态网络特征；（2）腐烂山药块茎中的真菌生态功能类群、代表性物种及其 trait 致病特性；（3）潜在病原真菌的分离鉴定。本研究将加深对腐烂山药块茎中真菌群落生态功能的理解，为阐明山药块茎腐烂的发病规律、定向使用农药及筛选生防菌提供了很好的参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试样品：2021 年 11 月自河南省焦作市温县山药种质资源圃（112°98'22" N、34°94'68" E）采集，将种植区域等分为 6 个区域，在每个区域中采集山药腐烂块茎，如图 1 所示。将腐烂块茎放入无菌自封袋，于冰盒中保存，带回实验室放入 4 ℃保存备用。



图 1 腐烂块茎外观形态

Fig.1 Rotting tuber of yam

1.2 土壤理化性质测定

土壤 pH（6.63）、总磷（Total phosphorus，213.254 mg·kg^{-1}）、总有机质（Total organic matter，410.00 mg·kg^{-1}）、速效磷（Available phosphorus，13.88 mg·kg^{-1}）和有效钾（Available potassium，300.28 mg·kg^{-1}）的测定参考鲍士旦（2000）方法进行测定，铵态氮（Ammonia nitrogen，110.24 mg·kg^{-1}）、硝态氮（Nitrate nitrogen，54.72 mg·kg^{-1}）和亚硝态氮（Nitrite nitrogen，3.12 mg·kg^{-1}）参考 Zhou 等（2021）对秸秆覆盖土壤理化性质测定方法。

1.3 样品的处理

山药块茎用流水冲洗干净后，在病健交界处切取 0.5 cm×0.5 cm 组织块，并进行表面消毒：75%酒精表面消毒 30 s，0.1%升汞消毒 4~5 min，无菌水漂洗 3~4 次。取最后 1 次漂洗的无菌水 100 μL 涂布于 PDA 培养基，确认表面消毒彻底后，取组织块装入无菌 EP 管。

送至上海美吉生物医药科技有限公司，提取 DNA 并进行质量鉴定后，利用 Illumina Mi Seq 平台，使用引物 ITS1F（CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA）/ITS2R（GCTGCGTTCTTCATCGATGC）进行 ITS 扩增子测序。

1.4 高通量测序数据的生物信息学分析

利用上海美吉生物医药科技有限公司云平台(https://cloud.majorbio.com/)进行高通量数据的分析和处理。利用 FLASH 1.2.11、QIIME 1.9.1、UCHIME 8.1 对原始数据进行质控拼接、数据优化，选择去除错误序列后覆盖度 100%、相似度大于 98%的序列进行 ASV 扩增子测序变异聚类（Tipton et al., 2021）。利用 Unite 真菌数据库进行真菌物种注释。利用 psych、microecoR 包计算真菌群落相关性，软件 gephi 0.10.1 及 ggClusterNet 和 WGCNA 等 R 包进行数据可视化。利用 FUNGuild 数据库（http://stbates.org/funguild_db.php）与 R studio 结合，预测腐烂山药块茎真菌生态功能结构。

1.5 腐烂山药真菌的分离纯化

将 0.5 cm×0.5 cm 病健交界处组织块消毒彻底后，用无菌研钵破碎，置于 5 mL 的无菌水中，混合均匀。以 10 倍梯度稀释，取制备原液、10^{-1}、10^{-2} 和 10^{-3} 四个梯度，涂布于 PDA 培养基，置于 28 ℃恒温黑暗培养 5~7 d，挑取形态、颜色等不同的菌落，使用划线法进行分离纯化，直至获得单一菌落。分离纯化后的菌株用于菌种保藏和 DNA 提取。

1.6 不同形态菌株 DNA 提取与鉴定

按照 DNA 提取试剂盒（OMEGA BIO）的方法提取不同形态真菌 DNA。采用真菌通用引物 ITS1（TCCGTAGGTGAACCTGCGG）/ ITS4（TCCTCCGCTTATTGATATGC）对菌株的 ITS 区进行扩增，使用 25 μL 的反应体系体系：2X Master Mix 12.5 μL，ddH_2O 9.9 μL，上游引物 0.8 μL，下游引物 0.8 μL，模板 1 μL。PCR 扩增体系：95 ℃预变性 5 min，94 ℃变性 30 s，54 ℃退火 30 s, 72 ℃延伸 60 s, 重复 35 次，72 ℃延伸 10 min。PCR 产物使用 1.0%琼脂糖凝胶电泳检测其质量，并送至上海生工生物有限公司进行测序，测序结果进行 BLAST 序列比对，利用软件 MEGA 11.0 进行多重序列比对，利用最大似然法构建真菌 ITS-rDNA 系统发育树。

2 结果与分析

2.1 腐烂山药块茎中真菌群落结构分析

利用 Illumina 平台对样品进行真菌 ITS1 区进行扩增子测序，共获得 382 426 条有效序列。对样品序列随机抽样 5 次进行稀释曲线分析，结果显示，在此测序深度下，不同样品中真菌物种的稀释曲线已趋于平稳（图 2），覆盖率均在 99.9%以上，说明此测序深度足以反应山药腐烂组织样品中的真菌群落信息。

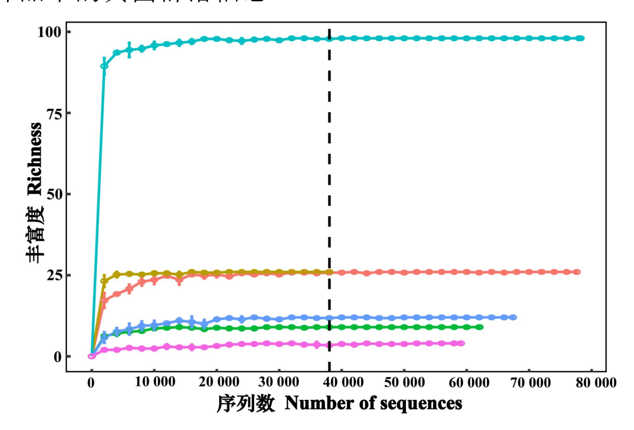


图 2 腐烂块茎中真菌的稀释曲线

Fig.2 Rarefaction curves of fungi in rotting tubers

进一步对真菌群落结构进行分析，在门水平上（图 3：A），子囊菌门（Ascomycota）是腐烂块茎中的绝对优势菌门，相对丰度为 91.75%；担子菌门（Basidiomycota），罗兹菌门（Rozellomycota），被孢菌门（Mortierellomycota），壶菌门（Chytridiomycota）和球囊菌门（Glomeromycota）含量较低，其相对丰度分别为 1.77%、1.36%、0.86%、0.41% 和 0.02%。在属水平上（图 3：B），相对丰度较高的真菌为青霉属（*Penicillium*，32.65%）、炭疽菌属（*Colletotrichum*，16.16%）、镰刀菌属（8.13%）、织球壳属（*Plectosphaerella*，7.30%）、棘壳孢属（*Setophoma*，5.14%）、帚枝霉属（*Sarocladium*，4.57%）、假丝酵母属（*Fusicolla*，2.94%）、丛赤壳科未分类属（un__Nectriaceae，2.53%）、枝顶孢属（*Acremonium*，1.76%）、篮状菌属（*Talaromyces*，1.05%）和粉红螺旋聚孢霉（*Clonostachys*，1.01%）等。

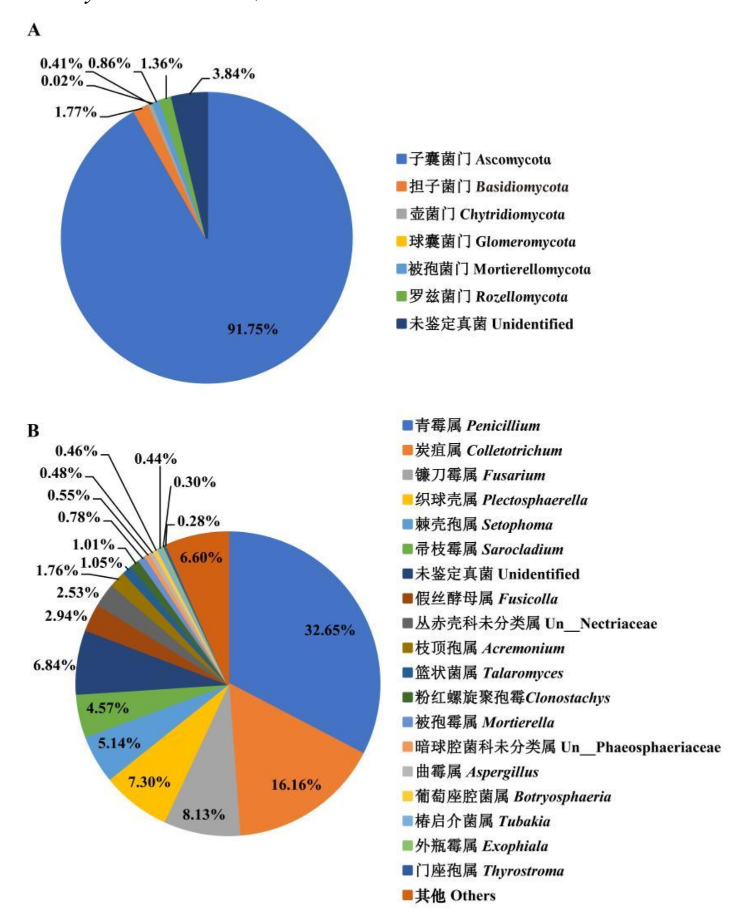
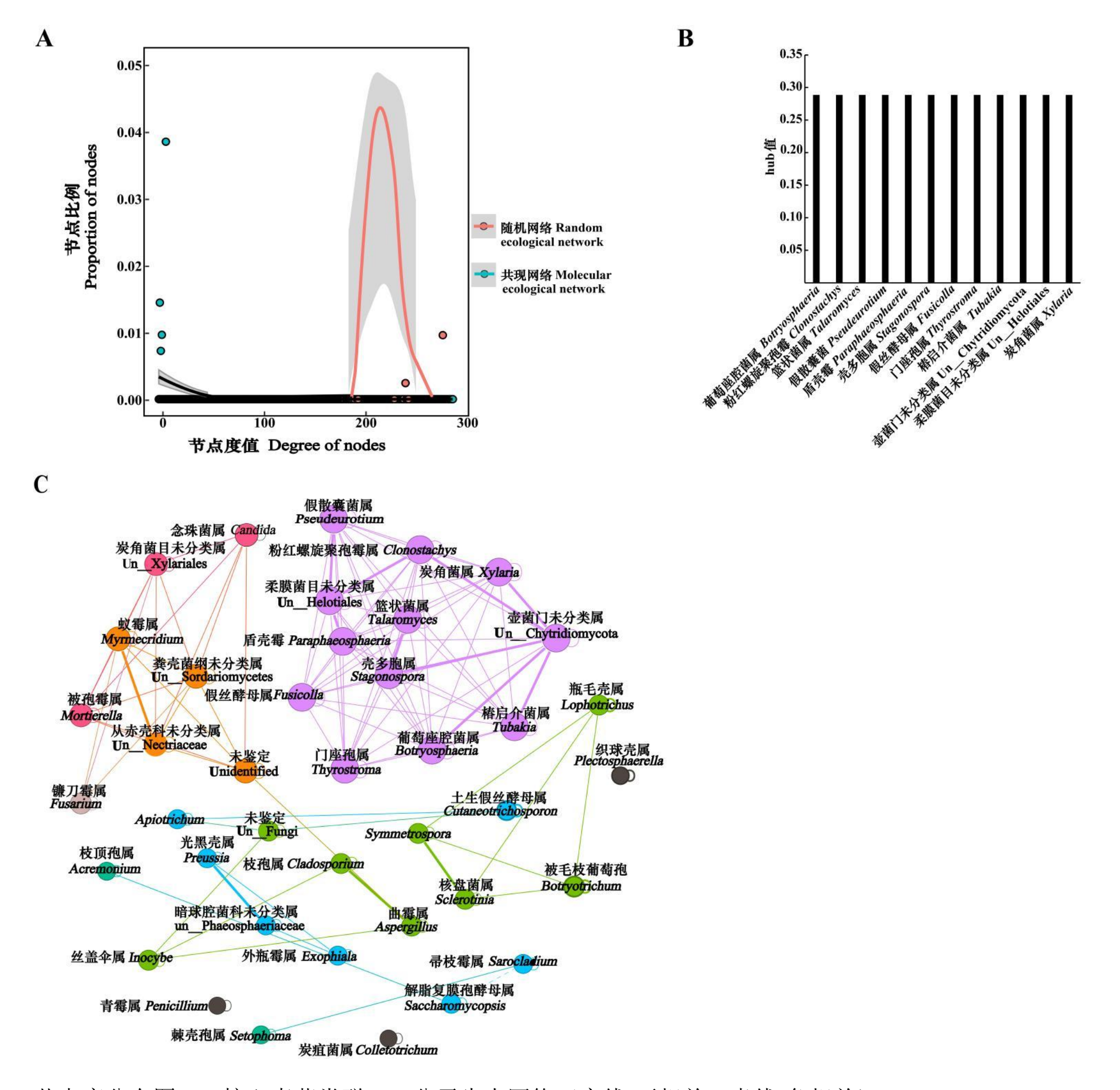


图 3 腐烂块茎中真菌群落在门水平（A）和属水平（B）的分布

Fig.3 Distribution of fungal communities in rotting tuber at the level of phylum (A) and genus(B)

利用 R 包（igraph）构建随机网络和共现网络节点度分布图，结果表明，随机网络节点分布符合泊松分布，共现网络节点分布服从幂律（图 4：A），即少数的节点往往拥有大量的连接，共现网络构建合理（林润辉和季泽，2024）。篮状菌属、粉红螺旋聚孢霉和假散囊菌属（*Pseudeurotium*）等真菌的 Hub 值均为 0.29，高于其他真菌的 Hub 值，说明它们在网络中属于核心真菌（图 4：B）。共现网络（图 4：C）由 40 个节点 151 条边组成，节点平均度为 7.415，平均加权度 22.20，网络直径为 6，图密度为 0.185，平均聚类系数 0.883，平均路径长度 1.849，模块化指数 0.466，具有模块化结构，正相关边数占比 99.33%。这些结果表明，网络中的大多数真菌趋向于正向强化其相互间的合作，且具有较强的对抗外界干扰的能力，山药腐烂块茎中真菌的生态功能类群很可能趋向于集中和强化。



A 节点度分布图；**B** 核心真菌类群；**C** 分子生态网络（实线-正相关，虚线-负相关）。

A The diagram of node degree distribution; **B** Keystone fungal taxa; **C** Molecular ecological network (The solid line: positive correlation, dotted line: negative correlation).

图 4 腐烂块茎真菌生态网络网络分析

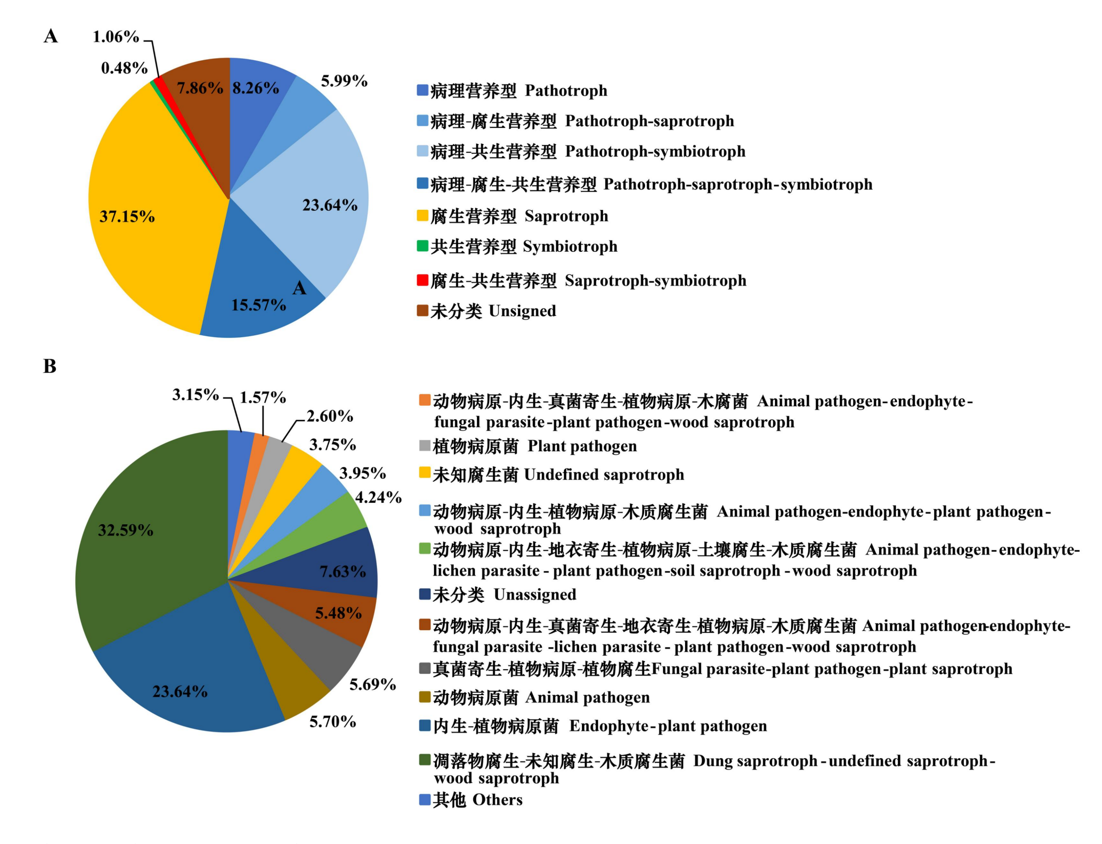
Fig.4 Molecular ecological networks analysis of fungi in rotting tuber

2.2 腐烂山药块茎真菌 FUNGuild 功能类群预测

为了进一步明确腐烂块茎中真菌的生态功能类群，首先利用 FUNGuild 数据库对山药腐烂块茎中的真菌营养类群进行分析（图 5：A）。结果表明，腐烂块茎中共有 7 种营养类型：病理营养型（pathtroph，8.26%）和病理复合营养型[病理-共生营养型（23.64%）、病理-腐生营养型（pathtroph-saprotroph，5.99%）、病理-腐生-共生营养型（pathtroph-saprotroph-symbiotroph，15.57%）]共占比 53.56%、腐生营养型（saprotroph，37.15%）、共生营养型（symbiotroph，0.48%）、腐生-共生营养型（saprotroph-symbiotroph，1.06%）。

Guild 生态功能分类结果显示，除未定功能的类群外，腐烂块茎中共有 37 种功能类群，包含丰度超过 1%类群 10 个（图 5：B）。其中，凋落物腐生-未命名腐生-木腐菌类群（dung saprotroph-undefined saprotroph-wood saprotroph，32.59%）对应的真菌仅有青霉属；内生-植物病原类群（endophyte-Plant Pathogen，23.64%）对应的真菌主要有炭疽菌属、织球壳属等；动物病原-内生-真菌寄生-地衣寄生-植物病原-木腐菌类群（animal pathogen-

endophyte-fungal parasite-lichen parasite-plant pathogen-wood saprotroph，5.48%）、动物病原-内生-地衣寄生-植物病原-土壤腐生-木腐菌类群（animal pathogen-endophyte-lichen parasite-plant pathogen-soil saprotroph-wood saprotroph，4.24%）和动物病原-内生-植物病原-木腐菌类群（animal pathogen-endophyte-plant pathogen-wood saprotroph，3.95%）对应的真菌主要是镰刀菌属；动物病原类群（animal plant pathogen，5.70%）对应的真菌主要是帚枝霉属；真菌寄生-植物病原-植物腐生（fungal parasite-plant pathogen-plant saprotroph，5.69%）对应的真菌仅有棘壳孢属；未知腐生菌类群（undefined saprotroph，3.75%）对应的真菌主要是篮状菌属；植物病原类群（plant pathogen，2.60%）对应的真菌主要有粉红螺旋聚孢霉、葡萄座腔菌属（*Botryosphaeria*）、椿启介菌属（*Tubakia*）等；动物病原-内生-寄生-植物病原-木腐菌类群（animal pathogen-endophyte-fungal parasite-plant pathogen-wood saprotroph，1.57%）对应的真菌仅有枝顶孢属；因此，病原或腐生相关的真菌生态功能类群在山药块茎腐烂中扮演重要的角色。



A 真菌营养型分类；**B** 真菌 guild 功能分类。

A General FUNGuild functional classification; **B** Detailed classification of fungal guilds.

图 5 FUNGuild 真菌群落功能分类

Fig.5 FUNGuild functional classification of fungal communities

Trait 致病特征分析结果显示，腐烂块茎真菌生态功能类群中的一些成员可引起植物软腐病，且其丰度和置信度差异明显（表 1）。其中，青霉属（32.70%）和互生枝顶孢（*A. alternatum*，0.19%）为极可能（Highly probable），镰刀菌属（3.89%）、炭角菌属（*Xylaria*，0.13%）、木霉属（*Trichoderma*，0.03%）为很可能（Probable），链格孢属（*Alternaria*，0.06%）、枝顶孢属（1.57%）为可能（Possible）。这些潜在病原真菌均隶属于腐生或植物病原相关的生态功能类群，很可能与山药块茎腐烂密切相关。

表 1 Trait 致病特征

Table 1 Pathogenic trait characterization

类群 Taxon	营养型 Trophic mode	功能类群 Guild	致病特征 Pathogenic trait	置信度 Confidence ranking	序列数 Sequence number	相对丰度 Relative abundance（%）
青霉属 *Penicillium*	腐生 Saprotroph	凋落物腐生-未命名腐生-木腐菌 Dung saprotroph-undefined saprotroph-wood Saprotroph	软腐 Soft rot	极可能 Highly probable	124 849	32.70
镰刀菌属 *Fusarium*	病理-腐生-共生 Pathotroph-saprotroph-symbiotroph	动物病原-内生-植物病原-木腐菌 Animal pathogen-endophyte-plant pathogen-wood Saprotroph	软腐 Soft rot	很可能 Probable	14 862	3.89
枝顶孢属 *Acremonium*	病理-腐生-共生 Pathotroph-saprotroph-symbiotroph	动物病原-内生-真菌寄生-植物病原-木腐菌 Animal pathogen-endophyte-fungal parasite-plant Pathogen-wood saprotroph	软腐 Soft rot	可能 Possible	6 002	1.57
互生枝顶孢 *A. alternatum*	腐生 Saprotroph	木腐菌 Wood saprotroph	软腐 Soft rot	极可能 Highly probable	737	0.19
链格孢属 *Alternaria*	病理-腐生-共生 Pathotroph-saprotroph-symbiotroph	动物病原-内生-植物病原-木腐菌 Animal pathogen-endophyte-plant pathogen-wood saprotroph	软腐 Soft rot	可能 Possible	226	0.06
木霉属 *Trichoderma*	病理-腐生-共生 Pathotroph-saprotroph-symbiotroph	动物病原-内生-附生-真菌寄生-植物病原-木腐菌 Animal pathogen-endophyte-fungal parasite-Plant pathogen-wood saprotroph	软腐 Soft rot	很可能 Probable	116	0.03
炭角菌属 *Xylaria*	腐生-共生 Saprotroph-symbiotroph	内生-未知腐生菌-木腐菌 Endophyte-undefined saprotroph-wood saprotroph	软腐 Soft rot	很可能 Probable	506	0.13

2.3 潜在病原真菌的分离鉴定

高通量测序及生态功能类群等分析结果表明，腐烂山药块茎中主要为植物病原或腐生型的真菌。但是，这些结果仅依赖于 DNA 测序技术，为进一步验证上述结果，进行组织分离培养实验，共获得 135 株真菌。挑选在培养基平板上具有不同生长形态的 22 株真菌，编号 RP1-RP22（图 6），进行 ITS-rDNA 扩增测序，所得序列进行 BLAST 比对，利用 MEGA 11.0 构建系统发育树。结果显示（图 7），这些真菌隶属于 6 个属，包括镰刀菌属（9 株）、青霉属（5 株）、曲霉属（*Aspergillus*）（4 株）、篮状菌属（1 株）、木霉属（2 株）、枝孢菌属（*Cladosporium*）（1 株）。其中，镰刀菌属、青霉属、曲霉属和篮状菌属均为高通量测序中丰度较高的菌属（图 3：B），证明了这些潜在病原真菌在腐烂山药块茎中的存活。对山药块茎病原真菌相关研究进行检索，结果表明，青霉属、镰刀菌属和曲霉属的成员是已报道山药块茎腐烂的主要病原真菌，除此之外，立枯丝核菌（*Rhizoctonia solani*）、可可毛色二孢菌、毛壳属等潜在病原真菌仅有个别报道（表 2）。

因此，本研究所分离到的病原真菌与已有研究基本一致。

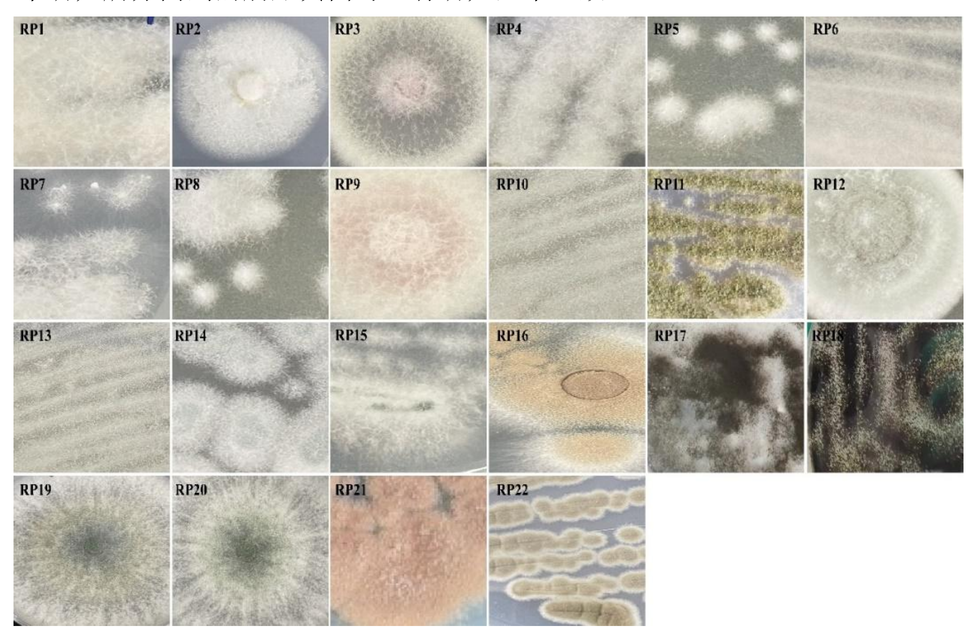


图 6 22 株分离真菌在 PDA 平板上的生长形态

Fig.6 The morphologies of 22 isolated fungi in PDA plates

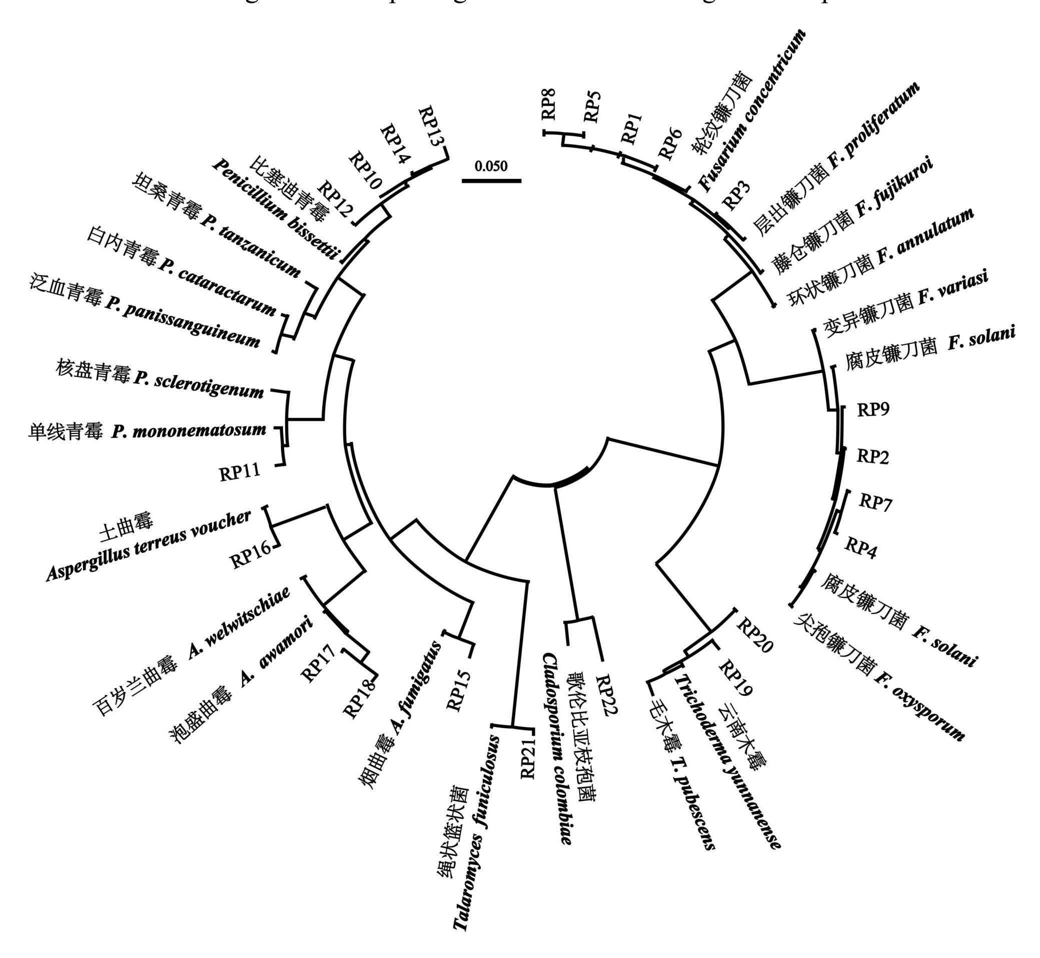


图 7 基于 ITS-rDNA 的 22 个菌株系统发育树

Fig.7 Phylogenetic tree of 22 strains based on ITS-rDNA

表 2 已报道的山药块茎病原真菌统计

Table 2 The statistics of pathogenic fungi in yam rot tubers from published papers

病原真菌（Pathogenic fungi）	文献（References）
腐殖镰刀菌 *Fusarium humuli*	Li et al., 2023
镰刀菌属 *Fusarium* sp.	Hamdayanty et al., 2020
尖孢镰刀菌 *F. oxysporum*	陈玉涵等，2022
腐皮镰刀菌、立枯丝核菌 *F. Solani, Rhizoctonia solani*	贾海民等，2011
腐皮镰刀菌 *F. solani*	丁慧琳等，2023
镰状镰刀菌 *F. falciforme*	Zhang et al., 2020
串珠镰刀菌 *F. moniliforme*	Eze et al., 2016
镰刀菌属 *Fusarium* spp.	Acholo et al., 1997
腐皮镰刀菌、毛壳霉属 *F. solani, Chaetomium* spp.	康捷等，2017
尖孢镰刀菌 *F. oxysporum*	黄祖旬，2013
草酸青霉、黑曲霉、尖孢镰刀菌、立枯丝核菌、可可色二孢、齐整小核菌 *Penicillium oxalate*, *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *R. solani*, *Lasiodiplodia theobromae, Sclerotium rolfsii*	Dania et al., 2016
可可色二孢菌 *L. theobromae*	Dania et al., 2019
青霉属 *Penicillium* spp.	Uy et al., 2022
细胞青霉 *P. cellarum*	Wang et al., 2024
青霉属 *Penicillium* spp.	Gao et al., 2023
青霉属、黄曲霉 *Penicillium* spp., *A. flavus*	Youassi et al., 2019
黑曲霉 *A. niger*	Dania et al., 2021
黑曲霉 *A. niger*	Popoola et al., 2019
群结腐霉 *Pythium myriotylum*	Zhang et al., 2018

3 讨论与结论

真菌病害严重危害山药地下块茎健康，极大影响了山药的产量和商品性。本研究首次利用 ITS 扩增子测序、网络分析及 FUNGuild 等分析山药块茎腐烂与真菌功能群落间的关系，并对潜在病原真菌进行分离鉴定。

网络结构和 FUNGuild 分析的结果表明，在山药腐烂块茎的真菌群落中，植物病原真菌和腐生真菌占据绝对优势，真菌群落具有正向合作的模块化网络。因此，山药腐烂块茎中的潜在病原-腐生真菌很可能存在着功能上的协同或者叠加。已有研究表明，植物病害的发生通常有两种模式：单一感染和混合感染，且混合感染是大多数植物真菌病害发生的主要模式（Wang et al., 2018），不同真菌协同感染植物，将极大加剧病害严重程度（Lamichhane et al., 2015；Whitelaw et al., 2013；鹿秀云等，2023）。单一病原真菌可通过形成附着胞生成侵染钉，直接穿透或通过自然开口（气孔、皮孔和水孔等）进入植物细胞间隙，分泌毒素，造成植物损伤，为其他病原真菌通过伤口侵染植物提供通道（李燕娜，2022）。多种病原真菌混合感染后，可协同改变宿主植物抗性，增强真菌致病力，最终加深植物病害程度（Debray et al., 2022; Halliday et al., 2020）。除此之外，这些病原真菌侵入植物后还可以通过为其他腐生真菌提供营养（Liu et al., 2022）或者通过分泌特定氨基酸（缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸）和辅助因子（泛酸和辅酶 a）进行压力选择（Shu, et al., 2019）等方式，改变与植物密切关联的真菌群落结构，强化真菌间互利的相互作用，进而导致疾病的发生和快速发展。因此，山药地下块茎腐烂很可能由侵染能力强的病原真菌首先通过山药表皮细胞或根尖侵染山药块茎，这些病原真菌的侵染一方面在山药块茎表面造成伤口，另一方面通过产生诱导物，吸引与其功能互补或者叠加侵染能力弱的病原真菌和腐生真菌定植。这种相互作用改变山药块茎真菌群落结构，刺激地下块茎中的真菌功能群落趋于单一化，最终使病原和腐生功能类群占据绝对优势。

本研究分离纯化所得潜在病原真菌均隶属于腐生或病原-腐生功能类群，主要为青霉属、镰刀菌属和曲霉属，这与已有研究的结果基本一致（表 2）。因此，在预防山药块茎腐烂方面，这 3 个属的潜在病原真菌应重点关注。个别研究者还从腐烂山药块茎分离到了立枯丝核菌、可可毛色二孢菌、毛壳属等潜在病原真菌（表 2），而本研究分离到的其他

潜在病原真菌则为篮状菌属、木霉属、枝孢菌属的成员。本研究与其他研究分离病原真菌的差异可能与所用样品的种植土壤类型、营养条件、温度和湿度（李超楠等，2022），病原本身的致病特性（耿丽华等，2022；张吉祥等，2013）及病原真菌培养方法的局限性、偏向性等多种因素密切相关（许世洋等，2024）。值得注意的是，炭疽菌属虽然未被分离到，但其在山药腐烂块茎中的相对丰度较高，达到 16.16%。炭疽菌属一直被认为是山药主要的叶部真菌病害之一，可导致山药叶部出现中间凹陷且周围伴有黄色晕圈的病斑，最终导致山药死亡。也有研究表明，炭疽菌属侵染叶片可以间接导致山药块茎的鲜重降低，块茎变小（Palaniyandi et al., 2016）。但是，目前尚未见炭疽菌属直接侵染山药根部的研究报道。在马铃薯炭疽病的研究中，研究者已从地下坏死部分分离鉴定到病原菌球炭疽菌（*C. coccodes*），而且证实球炭疽菌在马铃薯茎秆组织和块茎中均可沿着细胞间隙延伸扩散，最终导致茎秆组织坏死和块茎腐烂（魏周全等，2012；崔月贞等，2017）。因此，在未来的研究中，应该探究炭疽菌属病原菌分离培养条件，对炭疽菌属的潜在病原真菌进行分离鉴定，并对其是否能够直接或者通过叶片传导侵染山药块茎进行进一步的深入研究。

综上，本研究表明，山药块茎腐烂很可能是隶属于植物病原和腐生的真菌功能类群协同作用的结果。镰刀菌和青霉等真菌属的成员是造成山药地下块茎腐烂的主要病原，其很可能通过与其它真菌间的相互作用加剧了块茎腐烂和分解进程。这为进一步阐明山药块茎腐烂的发病规律、定向使用农药及筛选生防菌提供了很好的参考。

参考文献：

ACHOLO M, MORSE S, MACNAMARA N, et al., 1997. Aetiology of yam (*Dioscorea rotundata*) tuber rots held in traditional stores in Nigeria: Importance of *Fusarium* spp. and yam beetle[J]. Microbiol Res, 152: 293-298.

BAO SD, 2000. Soil Agro-chemistrical analysis[M] (3rd ed.). Beijing:China Agriculture Press: 268-270, 389-391.［鲍士旦，2000. 土壤农化分析[M]（第三版）. 北京：中国农业出版社，268-270, 389-391.］

CHEN YH, MA XY, TIAN XX, et al., 2022. Isolation and identification of yam root rot in Yulin of Shanxi[J]. Acta Agric Boreal-occident Sin, 31(11): 1521-1533.［陈玉涵，马心瑶，田夏夏，等，2022. 陕西榆林山药根腐病病原菌的分离与鉴定[J]. 西北农业学报，31(11)：1521-33.］

CUI YZ, 2017. Observation the infection process of *Colletotrichum coccodes* and analysis the differently induced expression genes in potato by the pathogen[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University: 1-54.［崔月贞，2017. 马铃薯炭疽病菌的侵染过程及病原菌诱导基因差异表达分析[D]. 兰州：甘肃农业大学：1-54.］

DANIA VO, FADINA OO, AYODELE M, et al., 2016. Evaluation of isolates of *Trichoderma*, *Pseudomonas* and *Bacillus* species as treatment for the control of post-harvest fungal rot disease of yam (*Dioscorea* spp.)[J]. Arch Phytopathol Plant Protect, 49(17-18): 456-470.

DANIA VO, FADINA OO, AYODELE M, et al., 2020. Distribution and virulence of fungal species isolated from yam (*Dioscorea* spp.) tubers in three agroecological zones of Nigeria[J]. Int J Pest Manage, 66(3): 252-261.

DANIA VO, FAJEMISIN AO, AZUH VO, 2021. Morphological and molecular characterization of *Aspergillus niger* causing postharvest rot of white yam (*Dioscorea rotundata* Poir)[J]. Arch Phytopathol and Plant Protect, 54(19-20): 2356-2374.

DEBRAY R, HERBERT RA, JAFFE AL, et al, 2022. Priority effects in microbiome assembly[J]. Nature, 20: 109-121.

DING HL, ZHAI YX, XUE LF, et al., 2023. Identification of the pathogen causing brown rot of

yam in Shanxi Province[J]. J Shanxi Agric Sci, 51(4): 406-411.［丁慧琳，翟雅鑫，薛丽芳，等，2023. 山西省山药褐腐病病原菌鉴定[J]. 山西农业科学，51(4)：406-411.］

EZE SC, UMEH SI, ONYEKE CC, et al., 2016. Preliminary investigations on the control of yam(*Dioscorea rotundata* Poir) tuber rot through nanoscience[J]. Nanotechnol Rev, 5(6): 499-505.

FAOSTAT, 2022. Food and Agriculture Organization of the United Nations[DB/OL]. http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC.

GAO J, HU XM, XIAO RJ, et al., 2023. The microbiome and typical pathogen multiplication, qualities changes of Baoxing yam at different storage temperatures[J]. LWT-Food Sci Technol, 188: 115402.

GUO HY, WANG DS, RUAN Y, et al., 2023. Characteristics and succession of rhizosphere soil microbial communities in continuous cropping watermelon [J]. Sci Agric Sin, 56(21): 4245-4258.［郭晗玥，王东升，阮杨，等，2023. 西瓜连作根际土壤微生物群落演替特征[J]. 中国农业科学，56(21)：4245-4258.］

GENG LH, WANG JS, MA J, et al., Identification and biological characteristics of the pathogen causing a new symptom disease of melon[J]. China Cucurb Veg, 34(3)：15-20.［耿丽华，王建设，马建，等，2021. 一种甜瓜新症状病害的病原鉴定及其生物学特性[J]. 中国瓜菜，34（3）：15-20.］

HALLIDAY FW, PENCZYKOWSKI RM , BARRÈS B, et al., 2020. Facilitative priority effects drive parasite assembly under coinfection[J]. Nat Ecol Evol, 4: 1510-1521.

HAMDAYANTY H, MALINDA N, 2020. Isolation and identification of pathogen causes brown spot disease on yam tubers (*Pachyrizus erosus*) in Indonesia[J]. IOP Conf Ser: Earth Environ Sci, 575: 012157.

HUANG ZX, 2013. Molecular identification and pesticides screening of four fungal pathogens of *Dioscorea alata* L[D]. Haikou: Hainan University, 1-42.［黄祖旬，2013. 参薯四种真菌性病害病原菌的分子鉴定与农药筛选[D]. 海口：海南大学：1-42.］

JIA HM, LU XY, CHEN D, et al., 2011. Occurrence law and control technology of root rot of yam[J]. N Hortic (1): 159-160.［贾海民，鹿秀云，陈丹，等，2011. 麻山药根腐病发生规律及其防治技术[J]. 北方园艺，（1）：159-160.］

LAMICHHANE JR, VENTURI V, 2015. Synergisms between microbial pathogens in plant disease complexes: a growing trend[J]. Front Plant Sci, 6: 385.

LI CN, LI HT, LI YC, et al., 2022. Research progress and control of root rot in *Atractylodes lancea*[J]. J Agro-Environ Sci, 41(12): 2840-2846.［李超楠，李洪涛，李运朝，等，2022. 苍术根腐病及其防治研究进展[J]. 农业环境科学学报，41（12）：2840-2846.］

LI PF, GU SS, ZHU YM, et al., 2023. Soil microbiota plays a key regulatory role in the outbreak of tobacco root rot[J]. Front Microbiol, 14: 1214167.

LI PF, YANG L, LI GL, et al., 2023. Research of rhizosphere fungi communities of *Fusarium* root rot diseased tobacco based on FUNGuild[J]. Acta Tabac Sin, 25(2): 63-68.［李朋发，杨龙，李桂龙，等，2019. 基于 FUNGuild 的镰刀菌根腐病发病烟株根际真菌群落研究[J]. 中国烟草学报，25（2）：63-68.］

LI SC, JIA HM, CHEN D, 2005. Progress on yam （ *Dicscorea opposita* Thunb） diseases and discussion on IPM strategies[J]. J NW A & F Univ, 33(s1): 243-246.［李术臣，贾海民，陈丹，2005. 山药主要病害研究进展和生产中存在的问题[J]. 西北农林科技大学学报，33(s1)：243-246.］

LI XY, ZENG R, HUANG XM, et al., 2023. First report in China of *Fusarium humuli* as a

causative agent of Chinese yam wilt[J]. Plant Dis, 107(6): 1943.
LI Y, JI S, XU T, et al., 2023. Chinese yam (*Dioscorea*): Nutritional value, beneficial effects, and food and pharmaceutical applications[J]. Trends Food Sci Technol, 134: 29-40.
LI YN, 2022. Evolution of stomatal immunity against fungi invasion in different vascular plants[D]. Lanzhou: Lanzhou University: 1-47. [李燕娜，2022. 不同维管束植物防御真菌入侵的气孔免疫进化[D]. 兰州：兰州大学：1-47.]
LIN RH, JI Z, 2024. The formation mechanism of inventors' collaboration network based on exponential random graph model[J]. Sci Technol Progr Policy. [林润辉，季泽，2024. 基于指数随机图模型的发明者合作网络形成机制研究[J]. 科技进步与对策.]
LIU TY, CHEN CH, YANG YL, et al., 2022. The brown root rot fungus *Phellinus noxius* affects microbial communities in different root-associatedniches of ficus trees[J]. Environ Microbiol, 24(1): 276-297.
LIU YX, SHAO QY, GE W, et al., 2021. Comparison of culturable phyllosphere fungal flora between healthy and diseased *Rosa roxburghii*[J]. Mycosystema, 40(10): 2620-2640. [刘宇星，邵秋雨，葛伟，等，2021. 健康与患病刺梨植株可培养叶际真菌菌群差异比较[J]. 菌物学报，40（10）：2620-2640.]
LU XY, SHANG JY, SHU ZH, et al., 2023. Identification and characterization of the pathogen causing root rot on *radix glehniae*[J]. Acta Phytopathol Sin, 53(5): 959-965. [鹿秀云，商俊燕，苏振贺，等，2023. 北沙参根腐病病原鉴定及侵染特点分析[J]. 植物病理学报，53（5）：959-965.]
MA J, KANG SY, MENG X, et al., 2018. Effects of rhizome extract of *Dioscorea batatas* and its active compound, allantoin, on the regulation of myoblast differentiation and mitochondrial biogenesis in C2C12 myotubes[J]. Molecules, 23(8): 2023.
MONDO JM, AGRE PA, ASIEDU R, et al., 2021. Optimized protocol for in vitro pollen germination in yam (*Dioscorea* spp.)[J]. Plants, 10(4): 795.
OBIDIEGWU JE, LYONS JB, CHILAKA CA. The *Dioscorea* genus (yam) - an appraisal of nutritional and therapeutic potentials[J]. Foods, 2020, 9(9): 1304.
PALANIYANDI SA, YANG SH, SUH J, 2016. Foliar application of extract from an azalomycin-producing *Streptomyces malaysiensis* strain MJM1968 suppresses yam anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides*[J]. J Microbiol Biotechnol, 26(6): 1103-1108.
POPOOLA OO, AJIBADE G, ABDULSALAMI MS, et al., 2019. Purification and characterization of Cellulase from *Aspergillus niger* causing soft rot of white yam in three yam-growing environments in Nigeria[J]. Int J Sci Res Publ, 9(6): 918-926.
SHU B, LIU LQ, WEI YZ, et al., 2019. Differential selection pressure exerted by root rot disease on the microbial communities in the rhizosphere of avocado (*Persea americana* Mill.)[J]. Ann Appl Biol, 175(3): 376-387.
TIPTON L, ZAHN GL, DARCY JL, et al., 2021. Hawaiian fungal amplicon sequence variants reveal otherwise hidden biogeography[J]. Microb Ecol, 83: 48-57.
WANG P, ZHAO N, LIANG CJ, et al., 2024. First report of *Penicillium cellarum* causing rot disease on *Dioscorea polystachya* in China[J]. Plant Dis, 108(1): 216.
WANG RF, WANG Y, YANG QX, *et al*., 2018. Unraveling the characteristics of the microbial community and potential pathogens in the rhizosphere soil of *Rehmannia glutinosa* with root rot disease[J]. Appl Soil Ecol, 130: 271-279.
WEI ZQ, CHEN AC, LUO DG, et al., 2012. Isolation and identification of the pathogens causing

the potato black dot in Gansu[J]. Plant Prot, 38(3): 113-115. [魏周全，陈爱昌，骆得功，等，2012. 甘肃省马铃薯炭疽病病原分离与鉴定[J]. 植物保护，38(3)：113-115.]

WHITELAW - WECKERT MA, RAHMAN L, APPLEBY LM, et al., 2013. Co-infection by *Botryosphaeriaceae* and *Ilyonectria* spp. fungi during propagation causes decline of young grafted grapevines[J]. Plant Pathol, 62(6): 1226-1237.

UY RJ， KAYAMORI M, NAKASHIMA C, 2022. Characterization of *Penicillium* species Isolated from *Dioscorea polystachya* in Hokkaido, Japan[J]. Mycoscience, 64(1): 11-18.

XU SY, QU JX, FANG XL, 2024. Effects of different culture conditions on conidial formation and germination in *Fusarium oxysporum* f. sp. *Medicaginis*[J]. Pratacul Sci. [许世洋，屈佳欣，方香玲，2024. 不同培养条件对尖孢镰刀菌苜蓿专化型分生孢子形成及萌发的影响[J]. 草业科学.]

YANG XL, ZHANG YH, WANG ZQ, et al., 2021. Pathogens infecting Chinese yams planted on ridges in Northern Hubei[J]. Fujian J Agri Sci, 36(1): 59-64. [杨小林，张佑宏，王佐乾，等，2021. 鄂北岗地山药病害病原菌鉴定[J]. 福建农业学报，36（1）：59-64.]

YOUASSI YYO, TCHAMENI NS, MOMO E, et al., 2019. Chemical composition of essential oil of *Mondia whitei* and antifungal activities against *Aspergillus flavus* and *Penicillium* sp., the mold associated on yams (*Dioscorea rotundata* Poir.) tuber rot[J]. J Biol Act Prod Nat, 9(3):197-204.

ZHANG JX, LING J, XIE BY, et al., 2013. Recent developments in themolecular detection of formae speciales and races of *Fusarium oxysporum*[J]. Chin Agric Sci Bull, 29(36)：338-342. [张吉祥，凌健，谢丙炎，等，2013. 尖孢镰刀菌专化型及生理小种分子检测研究进展[J]. 中国农学通报，29(36)：338-342.]

ZHANG YL, ZHANG B, MA LG, et al., 2018. First report of *Pythium myriotylum* causing root rot of yam in China[J]. Plant Dis, 102(12): 2663.

ZHANG X, LI LR, YANG JY, et al., 2020. Rot on rhizomes and adventitious root of *Dioscorea polystachya* caused by *Fusarium falciforme* in China[J]. Plant Dis, 104(5):1544.